

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

**Über die Proteinsynthese
in der Rattenleber bei Verschlußikterus
nach Choledochusligatur**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Christa Kraft
aus Mosbach

Gießen 1970

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

**Über die Proteinsynthese
in der Rattenleber bei Verschlußikterus
nach Choledochusligatur**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Christa Kraft
aus Mosbach

Gießen 1970

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Dissertation:
Prof. Dr. H. J. Deegler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lisch

Über die Prostataverhältnisse
in der Kallenheide bei Verschiebung
nach Cholesterin

IN A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen



Dekan: Prof. Dr. E. R. Habermann
Referent: Prof. Dr. H. A. Kühn
Correferent: Prof. Dr. Matthes

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

I N H A L T S A N G A B E :
=====

I. Einleitung	Seite 1
II. Abkürzungen	Seite 3
III. Material	Seite 4
IV. Methoden	Seite 6
V. Ergebnisse:	
TEIL A	Seite 12
TEIL B	Seite 20
VI. Diskussion	Seite 45
VII. Zusammenfassung	Seite 52
VIII. Literaturangabe	Seite 55
IX. Lebenslauf	Seite 59

I. E I N L E I T U N G :

=====

In der vorliegenden Arbeit wurden Untersuchungen zur Proteinsynthese in der Leber bei experimenteller Cholestase durchgeführt.

Vorherige Untersuchungen hatten ergeben, daß bei tierexperimenteller Cholestase der Ratte - ausgelöst durch Ikterogenin, Tauroolithocholsäure, alpha-naphthyl-iso-thiocyanat (ANIT) - sich in vitro in Leberschnitten ein erhöhter Einbau von radioaktiv markierten Aminosäuren in das Leberprotein nachweisen ließ.

(2,8,18,19,22)

Dabei hatte sich gezeigt, daß nicht nur der Einbau radioaktiv markierter Aminosäuren erhöht war, sondern daß es im Verlauf der Entwicklung der Cholestase zu einer Zunahme des Lebergewichtes und des Proteingehaltes gekommen war; daraus mußte man folgern, daß es bei diesen tierexperimentellen Cholestasen zu einer erhöhten Proteinsynthese in der Leber kommt.

Weitere Untersuchungen hatten ergeben, daß das Ausmaß dieser von POPPER (10) sogenannten "pathologisch anabolen Reaktion" bei der ANIT-Cholestase der Ratte der Aktivität der Cholestase, beziehungsweise den klinisch-chemischen Veränderungen im Serum etwa parallel geht.

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob sich in ähnlich angelegten Untersuchungen auch in vivo ein erhöhter Einbau radioaktiv markierter Aminosäuren in das Leberprotein nachweisen ließ. Als weiteres sollte geprüft werden, ob sich bei experimentell erzeugtem mechanischen Verschlußikterus der Ratte durch Choledochusligatur in ähnlicher Weise ein Anhalt für eine gesteigerte Proteinsynthese in der Leber nachweisen ließ.

II. ERLÄUTERUNGEN

=====

der in dieser Arbeit verwandten Abkürzungen:

ANIT	:	alpha-naphthyl-iso-thiocyanat
AP	:	Alkalische Phosphatase
EK	:	Endkonzentration
SGPT	:	Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase
SLAP	:	Serum-Leucin-Aminopeptidase
i.p.	:	intra-peritoneal
dpm	:	desintegrations per minute
s.A.	:	spezifische Aktivität
K.G.	:	Körpergewicht
KRB	:	Krebs-Ringer-Bicarbonat-Puffer
F.G.	:	Feuchtgewicht

III. M A T E R I A L :

=====

1. Versuchstiere:

Als Versuchstiere dienten männliche Albinoratten vom Stamm FW 49 (300-400g) von der Firma Dr. Karl Thomae GmbH in Biberach an der Riss.

Als Futter diente:

Standard-Diät von der Firma Altromin und Leitungswasser ad libitum.

2. Substanzen zur Bestimmung der Blut- und Serumwerte:

Haemoglobin: Cyanhaemiglobin-Reagenz
ASID-Institut GmbH München

Testansätze der Firma C.F. Boehringer & Soehne
Mannheim:

Bilirubin: Testansatz Nr. TC-BI 15944 TBAA

Cholesterin: Testansatz Nr. TC-CH 15949 TCAA

SLAP: Testansatz Nr. TC-LAP 15925 TLAF

GPT: Testansatz Nr. TC-H-II 15956 TGAK

Testansatz der Firma E. Merck, Darmstadt:

Alkalische Phosphatase: Merckotest Nr. 3314

Proteinstandard:

(Human cristallized Albumin) DADE Cat. No. B 5158

Code: Prostan, DADE Reagents Inc. Miami, Florida.

Scintillator-Substanzen: Packard Instruments, Frankfurt.

3. Chemische Substanzen:

ANIT	EGA-Chemie KG. Steinheim
(alpha-naphthyl-isothiocyanat)	
Cycloheximid	Serva Entwicklungslabor Heidelberg
(Actidion)	
Heparin Vitrum	Deutsche Kabi GmbH München
(5000 IE/ml)	
Pentobarbital	Fa. Boehringer Mannheim
(Nembutal)	
Phenobarbital	Fa. Bayer Leverkusen
(Luminal)	

IV. M E T H O D E N :

=====

1. Erzeugung der ANIT-Cholestase:

Die Versuchstiere erhielten 100 mg pro kg Körpergewicht alpha-naphthyl-iso-thiocyanat, gelöst in Olivenöl, durch die Schlundsonde verabfolgt. Die Kontrolltiere erhielten nur Olivenöl.

Die entsprechenden Untersuchungen wurden 48 Stunden nach der ANIT-Applikation durchgeführt.

2. Choledochus-Ligatur:

Die Versuchstiere mit einem mittleren Körpergewicht von 300 - 400g wurden mit Nembutal narkotisiert (0,1 ml/100g KG).

Die Schnittführung erfolgte vom Processus xiphoideus abwärts, genau in der Linea alba, ca. 2 cm lang.

Nach Durchtrennung des Peritoneums wurde der linke Leberlappen ein wenig angehoben, das darunterliegende Duodenum mobilisiert und der Ductus Choledochus aufgesucht. Der Gallengang wurde ca. 1 cm oberhalb seiner Einmündung in das Duodenum unterbunden.

Die entsprechenden Kontrolltiere wurden scheinoperiert und somit bis auf das Zuziehen der Ligaturschlinge gleich behandelt.

3. Bestimmung der Serumwerte:

Nach Vorbehandlung der Tiere und Einhaltung von optimalen Versuchsbedingungen wurden die Tiere mit Äther annarkotisiert. Durch Herzpunktion wurden ca. 5 ml Blut pro Tier gewonnen. Zur Erleichterung der Entnahme und Vermeidung von Gerinnung wurden Spritze und Kanüle mit Heparin durchspült. Anschließend wurde das Blut zentrifugiert und danach das Serum abgehoben. SGPT, SLAP und AP wurden jeweils als kinetischer Test, Gesamt-Bilirubin und Cholesterin als Farbtest per Testansatz bestimmt.

Die Messung der Proben erfolgte in einem Photometer der Firma Eppendorf.

4. Haemoglobinbestimmung:

Die Bestimmung des Hb erfolgte nach der Cyanhaemoglobinmethode: Kalimferricyanid oxidiert Haemoglobin zu Haemoglobin, das mit Kaliumcyanid einen stabilen Haemoglobincyanidkomplex bildet.

Auch hier erfolgte die Messung in einem Photometer Eppendorf.

5. Parameter der Blutgerinnung:

Die Messung dieser Werte erfolgte nach der Einphasengerinnungszeit nach QUICK. Die Bestimmungen dieser

Faktoren wurden von Frau MERSCH (Gerinnungslabor Prof. HÖRDER) durchgeführt, dafür bin ich ihr zu Dank verpflichtet.

6. Anfertigung und Beurteilung der histologischen Präparate:

Ein kleiner Teil des rechten Leberlappens wurde in 5 % iger Formalinlösung fixiert.

Das Färben der histologischen Präparate erfolgte im histologischen Labor der Medizinischen Universitätsklinik Giessen. Es wurden routinemäßig von jeder Versuchsgruppe 3 Färbungen angefertigt: H.E., Fe, v. Gieson.

Für die Beurteilung der angefertigten histologischen Präparate bin ich Herrn Dr.med. LEINWEBER zu großem Dank verpflichtet.

7. Messung des Proteingehaltes:

Die Bestimmung des Proteingehaltes erfolgte nach der BIURET-Methode:

a. Leerwert: 0,1 ml HCOOH

4,9 ml NaOH (1n)

5,0 ml BIURET-Reagenz

b. Standard: 0,1 ml Lab-Trol (7,05 %ige Prot.-lösung)

0,1 ml HCOOH

4,8 ml NaOH (1n)

5,0 ml Biuret-Reagenz

c. Probe: 0,1 ml Protein-Lösung

4,9 ml NaOH (1n)

5,0 ml Biuret-Reagenz

Die Messung erfolgte ebenfalls in einem Photometer
Eppendorf bei 546 nm.

8. Herstellen und Inkubation der Leberschnitten:

Nach der Herausnahme der Leber wurden aus dem rechten Leberlappen mit der Rasierklinge hauchdünne Scheiben geschnitten und bis zum Einwiegen in kalter physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt. Etwa 150 mg (± 20 mg) wurden eingewogen und in Inkubationsgläschen in 3 ml des Inkubationgemisches gebracht, mit CO₂ begast und unter Schütteln im Warburg-Apparat 60 Minuten bei 37° C inkubiert.

Danach wurden die Leberschnitten in kalter physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und bei minus 18° C aufbewahrt.

Inkubationsansatz:

0,06 ml Glucose 5 %

0,3 ml Na-acetat (EK 10^{-2} M)

0,2 ml 14-C-Glycin (EK 10 μ C/ml)

0,2 ml 14-C-Asparaginsäure (EK 10 μ C/ml)

0,1 ml inaktives Glycin (EK $1,5 \times 10^{-2}$ M)

0,1 ml inakt. Asparaginsäure (EK $1,5 \times 10^{-2}$ M)

Alle Substanzen wurden auf 3 ml mit KRB aufgefüllt.
Das Gemisch wurde mit 95 % O_2 und 5 % CO_2 begast,
der p_H auf 7,4 eingestellt.
Die Lösung wurde bei minus 18^0 C aufbewahrt.

9. Proteinsynthese:

Als Maß für die Proteinsynthese wurde der Einbau
von 14-C-Glycin und 14-C-Asparaginsäure in das
Leberprotein gewertet.

Nach dem Auftauen wurde das Lebergewebe mit 0,2 ml
Methanol in einem Zentrifugenglas mit einem Glasstab
homogenisiert.

Die Lipidextraktion erfolgte unter schrittweisem
Zusatz eines Methanol/Chloroform-Gemisches (1:5)
und durch Waschen des Homogenates mit 3 ml Äthanol.
Zur Extraktion der wasserlöslichen Gewebsanteile
wurde der Rückstand wiederum mit eiskalter 0,6 n
Perchlorsäure gewaschen und anschließend zur Extrak-
tion der Nucleinsäuren im Wasserbad bei 80^0 C mit
0,6 n Perchlorsäure erhitzt.

Nach Abkühlen wurde zentrifugiert, dekantiert und
der in der Perchlorsäure unlösliche Proteinrückstand
mehrmals mit Äthanol und Äther gewaschen; danach
wurde luftgetrocknet und die Probe anschließend

in 98 %iger Ameisensäure aufgelöst.

Von diesem Lysat wurde 0,2 ml zur Radioaktivitätsmessung eingesetzt und 0,1 ml zur Bestimmung des Proteingehaltes verwandt.

10. Radioaktivitätsmessung:

Die zur Messung vorgesehenen Proben wurden in Zählgläschen überführt und anschließend 10 ml eines Dioxanscintillators zugegeben.

Scintillator-Zusammensetzung:

1800 ml Dioxan

200 ml Äthanol absolutus

252 g Naphthalin

115 g Cab-O-Sil

315 mg POPOP

14 g PPO

Die Zählung der Proben erfolgte in einem Tri-Carb-Liquid Scintillations Spectrometer Modell 3375 der Firma Packard, Frankfurt/Main.

Die Quenchkorrektur erfolgte automatisch durch Verwenden eines Standards unter Zuhilfenahme der Kanalverhältnismethode.

11. Signifikanzberechnung:

Die Berechnungen erfolgten nach dem t-Test nach STUDENT.

V. E R G E B N I S S E : .

=====

TEIL A:

In Untersuchungen von GRÜN et al. (2) hatte sich nachweisen lassen, daß das Ausmaß der ANIT-Cholestase durch Vorbehandlung mit Phenobarbital gesteigert und andererseits durch Behandlung mit Cycloheximid gehemmt werden kann.

Der folgende Versuch wurde durchgeführt, um zu zeigen, ob sich auch in vivo ein erhöhter Einbau von radioaktiv markierten Aminosäuren in das Leberprotein unter diesen Bedingungen nachweisen ließ, und insbesondere ergab sich die Frage, ob sich diese Veränderungen nur in der Leber abspielen.

Deshalb wurden vier Gruppen von je 6 Tieren gebildet, die zunächst - wie in Tabelle 1 angegeben - vorbehandelt wurden und am vierten Tag in üblicher Weise ANIT (100 mg/kg KG) durch die Schlundsonde erhielten. 48 Stunden nach der ANIT-Applikation wurden die Versuchstiere getötet.

In der mit Cycloheximid behandelten Gruppe verstarben drei Tiere während des Versuchsablaufes an Blutungskomplikationen, sodaß diese Gruppe bei der Versuchsaufarbeitung nur noch aus drei Tieren bestand.

Vom zweiten Versuchstag an erhielten die Tiere täglich 25 μ C 14-C-Glycin i.p. appliziert, um vergleichend den Einbau der radioaktiv markierten Aminosäure in die verschiedenen Organproteine zu untersuchen.

14-C-Glycin wurde deshalb gewählt, weil gleichzeitig der Einbau dieser Aminosäure in das Leber- und Serum-Bilirubin gemessen werden sollte.

(Über diese Untersuchungen wird an anderer Stelle berichtet werden.)

Am 6. Tag wurden die Tiere mit Äther narkotisiert, durch Herzpunktion wurden ca. 5 ml Blut pro Tier gewonnen. Es wurden die Leberfunktionsproben gemessen, weiterhin wurde der Einbau von 14-C-Glycin in das Erythrocyten-Hb untersucht. Zusätzlich wurden den Tieren die Leber und andere Organe herausgenommen und der Einbau von 14-C-Glycin in die Organ-eiweiße untersucht.

Tabelle 1 gibt zusammenfassend die Versuchsanordnung wieder.

Tabelle 2 bestätigt zunächst prinzipiell die vorher gewonnenen Ergebnisse insofern, als gezeigt werden kann, daß die ANIT-Cholestase nach luminal-Vorbehandlung deutlicher ausgeprägt ist als unter alleiniger

Untersuchungs- bedingungen	n	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	6.Tag
Gruppe A KONTROLLE	6	2,5ml NaCl phys. i.p.	25 μ C 14-C-Gly i.p.	-	- 1ml δ l (Sonde)	-	-
Gruppe B ANIT	6	2,5ml NaCl phys. i.p.	25 μ C 14-C-Gly i.p.	-	- ANIT (100mg/kg) Sonde	-	-
Gruppe C ANIT+LUMINAL	6	Luminal (50mg/kg) i.p.	- 25 μ C 14-C-Gly i.p.	-	- - ANIT	- -	- -
Gruppe D ANIT+Cyclo- heximid	3	Cyclohexi- mid (0,5mg/kg) i.p.	- 25 μ C 14-C-Gly i.p.	-	- - ANIT	- -	- -

Tabelle 1: Schema der Versuchsanordnung über den Einfluss der ANIT-Cholestase auf die Proteinsynthese der Leber und anderer Organe in vivo, gemessen an dem Einbau von 14-C-Glycin. Ausführliche Erklärung siehe Text.

Gabe von ANIT. Gleichzeitig lässt sich zeigen, daß - wenn auch nicht allzu deutlich - durch Cycloheximid die ANIT bedingte Cholestase etwas abgeschwächt werden kann. Dabei ist die Aussage diesbezüglich durch die geringe Tierzahl und komplizierte Vorbehandlung (länger dauernde und niedrigere Dosierung) eingeschränkt. Tabelle 2 zeigt weiterhin, daß die gesteigerte Aktivität der Cholestase durch Luminal nicht auf eine Haemolyse zurückgeführt werden kann, da das Haemoglobin nicht verändert ist, im Vergleich zu den Kontrollen und den allein mit ANIT behandelten Tieren.

Desgleichen findet sich ein konstanter Einbau von 14-C-Glycin in das Erythrocyten-Hb.

Die im Vergleich zu vorherigen Untersuchungen deutlich ausgeprägte Bilirubin-Erhöhung bei länger dauernder Cycloheximid-Behandlung könnte dagegen in diesem Versuch auf eine zusätzliche Haemolyse zurückzuführen sein, da gemessen an der Erhöhung der Alkalischen Phosphatase die Cholestase deutlich geringer ausgeprägt ist und sich eine Haemoglobin-Verminderung im Blut nachweisen lässt.

Ein zusätzlicher Einfluß einer Verminderung der Haemoglobinsynthese muß allerdings in Rechnung gestellt werden, dürfte jedoch in so kurzer Zeit nicht zu einem derart deutlichen Hb-Abfall führen.

Untersuchungs- bedingungen	n	BILIRUBIN (mg%)	SGPT (mU/ml)	AP (mU/ml)	Hb-Gehalt (%)	dpm/mg Hb
Gruppe A KONTROLLEN	6	0,17 + 0,06 -	20,5 + 11 -	298 + 17 -	13,3 + 1,7 -	1192 + 334 -
Gruppe B ANIT	6	7,4 + 3,9 -	125 + 29 -	1563 + 357 -	13,3 + 0,9 -	1097 + 333 -
Gruppe C ANIT+LUMINAL	6	8,6 + 2,8 -	131 + 25 -	1808 + 259 -	13,2 + 0,5 -	1241 + 133 -
Gruppe D ANIT+Cyclo- heximid	3	6,6 + 2,2 -	49 + 13 -	522 + 44 -	11,2 + 1,5 -	516 + 107 -

Tabelle 2: Leberfunktionsproben, Hb-Gehalt und Einbau von 14-C-Glycin in das Erythrocyten-Hb unter verschiedenen Bedingungen der ANIT-Cholestase in Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

Tabelle 3 zeigt, daß unter diesen Versuchsbedingungen auch in vivo nach oraler Applikation von ANIT die sogenannte anabole Reaktion der Leber nachgewiesen werden kann, wobei diese durch zusätzliche Luminal-Vorbehandlung verstärkt und durch Gabe von Cycloheximid abgeschwächt wird. Insofern lassen sich die in vitro erhobenen Befunde in vivo bestätigen.

Tabelle 4 zeigt, daß andere untersuchte Organe diese verstärkte anabole Reaktion nicht aufweisen, womit frühere Untersuchungen in vitro von GRÜN (2) in vivo bestätigt werden.

Untersuchungs- bedingungen	n	Leber-Feuchtgw. (g)	dpm/mg Leber FG	dpm/Gesamtleber ($\times 10^6$)
Gruppe A KONTROLLE	6	9,1 $\pm 1,3$	408 ± 93	3,5 $\pm 0,8$
Gruppe B ANIT	6	10,4 $\pm 1,1$	452 ± 63	4,7 $\pm 0,6$
Gruppe C ANIT+LUMINAL	6	12,1 $\pm 1,1$	572 ± 209	6,8 $\pm 0,9$
Gruppe D ANIT+Cyclo- heximid	3	9,1 $\pm 0,1$	351 ± 72	3,2 $\pm 0,5$

Tabelle 2: Leber-Feuchtgewicht, Einbau von 14-C-Glycin in das
Lebergewebe unter verschiedenen Bedingungen der
ANIT-Cholestase im Vergleich zu einem Kontrollversuch.

Untersuchungs- bedingungen	n	dpm/mg FG MILZ	dpm/mg FG NIERE	dpm/mg FG HERZ	dpm/mg FG DARM	dpm/mg FG MUSKEL	dpm/mg FG HAUT	dpm/mg FG AORTA
Gruppe A KONTROLLE	6	264 + 58 -	449 + 49 -	209 + 59 -	307 + 142 -	133 + 29 -	82 + 42 -	82 + 56 -
Gruppe B ANIT	6	240 + 40 -	422 + 59 -	188 + 32 -	231 + 84 -	119 + 35 -	83 + 43 -	93 + 32 -
Gruppe C ANIT+LUMINAL	6	306 + 95 -	481 + 67 -	225 + 121 -	294 + 157 -	152 + 47 -	125 + 53 -	146 + 57 -
Gruppe D ANIT+Cyclo- heximid	3	225 + 105 -	334 + 60 -	249 + 74 -	216 + 49 -	107 + 29 -	59 + 8 -	60 + 23 -

Tabelle 4: Einbau von 14-C-Glycin in das Protein verschiedener Organe unter unterschiedlichen Bedingungen der ANIT-Cholestase in Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

TEIL B:

1. Biochemisch-klinische Ergebnisse:

In dem zweiten Teil der vorliegenden Arbeit sollte geprüft werden, ob sich eine anabole Reaktion der Leber auch beim experimentellen Verschlußikterus durch Choledochusligatur nachweisen lässt.

Tabelle 5 zeigt zunächst, daß 48 Stunden nach Anlegen der Choledochusligatur im Vergleich zu scheinoperierten Kontrolltieren die Konstellation der Leberfunktionsproben im Serum eindeutig auf einen Verschlußikterus hinweist. Gegenüber einer geringfügigen Transaminasen-Erhöhung findet sich ein eindeutiger Bilirubin- und Cholesterin-Anstieg und eine geringe Steigerung der SLAP und der AP Aktivität im Serum.

Untersucht man zum gleichen Zeitpunkt den in vitro-Einbau von 14-C-Glycin und 14-C-Asparaginsäure in Leberschnitten - wiederum im Vergleich zu scheinoperierten Kontrollen -, so findet sich ein deutlich erhöhter Einbau von radioaktiv markierten Aminosäuren und eine signifikante Steigerung des Proteingehaltes in der Leber. Dabei müssen die angegebenen Werte für den Proteingehalt/100 mg Feuchtgewicht als zu niedrig angesehen werden, da die gewählte Auf-

Untersuchungs- bedingungen	n	BILIRUBIN (mg%)	CHOLESTERIN (mg%)	SGPT (mU/ml)	SLAP (mU/ml)	AP (mU/ml)
KONTROLLE	6	0,45 ± 0,49	72,2 ± 26,5	77 ± 32	27,5 ± 6,9	385 ± 261
VERSCHLUSS (Chol.-Lig.)	6	5,6 ± 0,9	176 ± 40	134 ± 49	36 ± 6,4	582 ± 147
p		< 0,0005	< 0,0005	< 0,025	< 0,05	< 0,05

Tabelle 5 : Leberfunktionsproben im Serum von Ratten 48 Std. nach
experimentellem Gallengangsverschluss durch Cholecholestigatur
im Vergleich zu einem scheinoperierten Kontrollkollektiv.

arbeitung für die Bestimmung des Gesamtproteins nicht günstig ist; zur Extraktion der Lipide und Nucleinsäuren müssen Aufarbeitungsschritte gewählt werden, die zu einem Verlust an Proteinen führen.

Tabelle 6

Das Ergebnis dieser Untersuchung wird prinzipiell durch etwa gleichzeitig vorgenommene Untersuchungen von KATTERMANN et al. (3) und POPPER et al. (9) bestätigt, sodaß kein Zweifel daran besteht, daß in der akuten Phase nach Choledochusligatur vermehrt Protein in der Leber synthetisiert wird.

5 Tage nach Anlegen der Ligatur sind die Veränderungen nicht mehr so deutlich ausgeprägt:

Tabelle 7 zeigt zunächst, daß sich auch zu diesem Zeitpunkt ein Ikterus vom Verschlußtyp interpretieren lässt, aufgrund der klinisch-chemischen Veränderungen im Serum.

Allerdings ersieht man aus Tabelle 8, daß der in vitro-Einbau der radioaktiv markierten Aminosäuren nur mäßig gesteigert ist und im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der ANIT-Cholestase findet sich eine Verminderung des Lebergewichtes.

Bei diesen Untersuchungen ist zu bedenken,

Untersuchungs- bedingungen	n	PROTEIN-SYNTHESE dpm/mg FG	PROTEINGEHALT * mg prot/100 mg FG	LEBERGEWICHT (g)	GESAMTPROTEIN der Leber (mg)
KONTROLLEN	6	173 + 99 =	6,15 + 0,9 =	11,5 + 1,6 =	703 + 115 =
VERSCHLUSS (Chol.-Lig.)	6	400 + 143 =	7,9 + 1,4 =	11,3 + 1,3 =	880 + 161 =
p		<0,005	<0,025	>0,2	<0,05

Tabelle 6 : Proteinsynthese und Proteingehalt in Lebern von Ratten 48 Std.
nach Choledochusligatur im Vergleich zu einem scheinoperierten
Kontrollkollektiv.

* = relativer Proteingehalt.

Untersuchungs- bedingungen	n	BILIRUBIN (mg%)	CHOLESTERIN (mg%)	SGPT (mU/ml)	SLAP (mU/ml)	AP (mU/ml)
KONTROLLE	4	0,07 ± 0,1	70,4 ± 13,6	11,2 ± 0	23,9 ± 1,8	361 ± 46
VERSCHLUSS (Chol.-Lig.)	4	7,2 ± 1,5	179 ± 64	28 ± 7,9	40,9 ± 0,8	437 ± 93
p		<0,025	<0,05	<0,05	<0,005	70,2

Tabelle 7 : Leberfunktionsproben im Serum von Ratten 5 Tage nach
experimentellem Gallengangsverschluss durch Choledochus-
ligatur im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv.

daß allein aufgrund der postoperativen Situation die Unterschiede weniger klar zum Ausdruck kommen als es nach oraler ANIT-Gabe der Fall ist.

Tabellen 9 und 10:

Desgleichen gelingt es nicht, im Gegensatz zu Untersuchungen bei der ANIT-Cholestase, die Aktivität des auftretenden Verschlußikterus durch gleichzeitige Gabe von Cycloheximid zu beeinflussen.

Dabei ist zu bedenken, daß durch die Cycloheximid-Applikation eine außerordentlich starke Erniedrigung der Gerinnungsfaktoren auftritt - vergleichbar der Marcumar-Behandlung beim Menschen - (siehe Tabelle 15), sodaß den Tieren nur geringe Dosen von Cycloheximid (0,5 mg/kg KG) verabfolgt werden können, da sonst postoperativ aufgrund der gesetzten Läsionen mit lebensgefährlichen Blutungen gerechnet werden muß.

Tabelle 10 zeigt, daß auch diese Form der Cycloheximid-Applikation nicht zum Absinken der Proteinsynthese in der Leber geführt hat.

Versuchstiere mit höheren Cycloheximid-Dosen verstarben an postoperativen Blutungen.

Untersuchungs- bedingungen	n	PROTEIN-SYNTHESE dpm/mg FG	PROTEIN-GEHALT mg Prot/100mg FG	LEBERGEWICHT (g)	GESAMTPROTEIN der Leber (mg)
KONTROLLE	4	419 ± 29	8,1 ± 0,07	11,7 ± 0,5	1192 ± 5
VERSCHLUSS (Chol.-Lig.)	4	513 ± 132	8,1 ± 0,07	9,7 ± 0,7	1057 ± 110
p		70,2	./.	< 0,05	> 0,1

Tabelle 8 : Proteinsynthese und Proteingehalt in Lebern von Ratten 5 Tage
nach Choledochusligatur im Vergleich zu einem scheinoperierten
Kontrollkollektiv.

Untersuchungs- bedingungen	n	BILIRUBIN (mg%)	CHOLESTERIN (mg%)	SGPT (mU/ml)	SLAP (mU/ml)	AP (mU/ml)
KONTROLLE +Cycloheximid	4	0,16 ± 0,04	49,5 ± 12	19,6 ± 5,6	11,1 ± 1,9	182 ± 26
VERSCHLUSS +Cycloheximid	4	5,8 ± 0,4	196,2 ± 43	67 ± 28,3	40,2 ± 8,2	405 ± 85
p		<0,0005	<0,0005	<0,01	<0,0005	<0,0025

Tabelle 9 : Leberfunktionsproben von Ratten 48 Std. nach Choledochus-
ligatur und zusätzlicher Applikation von Cycloheximid an den
beiden postoperativen Tagen: 0,5 mg/kg KG i.p.
Als Kontrolle dienten scheinoperierte Tiere.

Untersuchungs- bedingungen	n	PROTEIN-SYNTHESE dpm/mg FG	PROTEIN-GEHALT mg Prot/100mg FG	LEBERGEWICHT (g)	GESAMTPROTEIN der Leber (mg)
KONTROLLE +Cycloheximid	4	308 + 91 —	8,9 + 1,8 —	13,5 + 0,9 —	1204 + 290 —
VERSCHLUSS +Cycloheximid	4	438 + 214 —	10,3 + 2,8 —	12,3 + 1,7 —	1286 + 420 —
p		70,1	70,2	70,1	70,35

Tabelle 10 : Proteinsynthese und Proteingehalt in Lebern von Ratten 48 Std.
nach Cholelithusligatur und zusätzlicher Applikation von Cyclo-
heximid an den beiden postoperativen Tagen: 0,5 mg/kg KG i.p.
Als Kontrolle dienten scheinputierte Tiere.

Tabellen 11 und 13:

Desgleichen gelingt es nicht, durch Vor- oder auch durch Nachbehandlung der Tiere mit Phenobarbital (50 mg/kg KG) die Aktivität der vorliegenden mechanischen Cholestase zu variieren.

Wie die beiden folgenden Tabellen 12 und 14 zeigen, kommt es auch unter diesen Versuchsbedingungen zu keinen eindeutigen Veränderungen der Proteinsynthese in der Leber, sodaß die bei ANIT-Cholestase gefundene Aktivitätssteigerung durch zusätzliche Phenobarbital-Medikation an dem Modell der extra-hepatischen Cholestase durch Choledochusligatur nicht reproduziert werden kann.

Untersuchungs- bedingungen	n	BILIRUBIN (mg%)	CHOLESTERIN (mg%)	SGPT (mU/ml)	SIAP (mU/ml)	AP (mU/ml)
KONTROLLE +Phenobarbital	4	0,073 ± 0,062	49 ± 6	45 ± 9	12,9 ± 4,7	229 ± 74
VERSCHLUSS +Phenobarbital	5	4,9 ± 0,9	136 ± 24	146 ± 36	25 ± 15	454 ± 160
p		<0,0005	<0,0005	<0,0025	<0,005	<0,0005

Tabelle 11 : Leberfunktionsproben von Ratten 48 Std. nach Choledochus-
ligatur im Vergleich zu einem scheinoperierten Kontroll-
kollektiv. Zusätzlich erhielten die Tiere praeoperativ
5 Tage lang tägl. 50 mg/kg KG Phenobarbital i.p. appliziert.

Untersuchungs- bedingungen	n	PROTEIN-SYNTHESE dpm/mg F G	PROTEIN-GEHALT mg Prot/100mg FG	LEBERGEWICHT (g)	GESAMTPROTEIN der Leber (mg)
KONTROLLE +Phenobarbital	4	62,5 + 23,7 -	5,9 + 0,3 -	11,8 + 1,9 -	696 + 79 -
VERSCHLUSS +Phenobarbital	5	114,4 + 66,6 -	5,5 + 0,7 -	12,1 + 1,6 -	688 + 129 -
p		> 0,05	> 0,1	> 0,4	> 0,45

Tabelle 12 : Proteinsynthese und Proteingehalt in Lebern von Ratten 48 Std.
nach Cholelithiasis im Vergleich zu einem scheinoperierten
Kontrollkollektiv. Zusätzlich erhielten die Tiere präoperativ
5 Tage lang tägl. 50 mg/kg KG Phenobarbital i.p. appliziert.

Untersuchungs- bedingungen	n	BILIRUBIN (mg%)	CHOLESTERIN (mg%)	SCPT (mU/ml)	SLAP (mU/ml)	AP (mU/ml)
KONTROLLE + Phenobarbital	4	0,05 ± 0,06	64,8 + 10,2 —	28 ± 7,9 —	26,5 ± 0	322 ± 31
VERSCHLUSS + Phenobarbital	4	5,3 ± 3,6	134 ± 14	28 ± 7,9 —	34,6 ± 5,3 —	485 + 162 —
p		< 0,05	< 0,025	./.	> 0,05	> 0,1

Tabelle 13: Leberfunktionsproben von Ratten 5 Tage nach Choledochus-
ligatur im Vergleich zu einem scheinoperierten Kontroll-
kollektiv. Die Tiere erhielten zusätzlich an den 5 post-
operativen Tagen tägl. 50mg/kg KG Phenobarbital i.p. appliziert.

Untersuchungs- bedingungen	n	PROTEIN-SYNTHESE dpm/mg FG	PROTEIN-GEHALT mg Prot./100 mg FG	LEBERGEWICHT (g)	GESAMTPROTEIN der Leber (mg)
KONTROLLE + Phenobarbital	4	441 + 27 —	8 + 1,1 —	15,1 + 2,2 —	938 + 48 —
VERSCHLUSS + Phenobarbital	4	496 + 21 —	7,9 + 1 —	13,4 + 0,3 —	782 + 52 —
P		> 0,05	> 0,2	> 0,15	< 0,05

Tabelle 14 : Proteinsynthese und Proteingehalt in Lebern von Ratten 5 Tage nach Cholelithusligatur im Vergleich zu einem scheinoperierten Kontrollkollektiv. Die Tiere erhielten zusätzlich an den 5 postoperativen Tagen tägl. 50 mg/kg KG Phenobarbital i.p. appliziert.

Wie bereits erwähnt, ist es möglich, daß durch die postoperative Situation die sich sonst bei Cholestase ergebenden Unterschiede verwischt werden, zumal auch die Kontrolltiere in dieser Situation an Gewicht abnehmen (postoperativer Katabolismus), sodaß möglicherweise durch die Operation ausgelöste gegenläufige Prozesse im Organismus ablaufen können. Ein Beispiel für die veränderten Untersuchungsbedingungen geben die in Tabelle 15 aufgeführten Gerinnungsuntersuchungen, die zeigen, daß bereits die scheinoperierten Tiere veränderte Gerinnungsfaktoren aufweisen.

Tabelle 15 zeigt gleichzeitig in der unteren Reihe das bereits aufgeführte starke Absinken dieser Faktoren unter Cycloheximid-Behandlung.

Untersuchungs- bedingungen	n	QUICK (%)	FAKTOR II (%)	FAKTOR V (%)	FAKTOR VII (%)
Unbehandelte KONTROLLEN	5	102 + 6 —	95 + 8 —	88 + 12 —	91 + 33 —
Scheinoperierte Tiere	6	158 + 33 —	103 + 10 —	166 + 104 —	200 + 137 —
Cholechochus- ligatur	6	132 + 32 —	104 + 11 —	198 + 144 —	162 + 105 —
Chol.-Lig. + Phenobarbital	5	157 + 74 —	105 + 20 —	339 + 242 —	289 + 187 —
Chol.-Lig. +Cycloheximid	5	<1	<1	<1	<1

Tabelle 15 : Einfluss einer Cholechochusligatur auf die Thromboplastin-
zeit nach Quick und die relative Aktivität der Gerinnungs-
faktoren II, V, VII unter verschiedenen Untersuchungsbedingungen.

2. Beurteilung der histologischen Präparate:

a) Scheinoperierte Kontrollen:

Lichtmikroskopisch ist die Struktur des Leberparenchyms normal. Die zentralnahe gelegenen Leberzellen weisen eine Auflockerung des Cytoplasmas auf mit azurblauer Körnelung. Peripher ist das Cytoplasma engmaschiger und acidophiler.

Es handelt sich sowohl bei den Tieren, die 2 Tage nach der (Schein-) Operation, als auch bei denen, die 5 Tage danach getötet wurden, um einen regelrechten Leberaufbau: die Peripoportalfelder sind unauffällig, die Gallengangsbegrenzung ist scharf, das Epithel ist normal aufgebaut und das Sternzellensystem zeigt keinerlei Reaktion. (Abb. 1)

b) Choledochusligatur:

Auch hier ist in sämtlichen Präparaten die Leberarchitektur noch erhalten, doch im Vergleich zum normalen Kontrollkollektiv findet sich eine auffällige Erweiterung der Peripoportalfelder, teils ödematös bedingt, teils durch zelluläre Infiltration (Rundzellen, gelapptkernige Leucocyten). Die Gallenwege zeigen ein weites Lumen, das unregelmäßig durch teilweise beschädigte Epithelzellen begrenzt wird. (Abb. 2)

Um größere Gallengänge findet sich eine zart angelegte Fibrose. Besonders auffallend jedoch sind die Veränderungen im Gebiet der Zentralvene, ähnlich denen, wie sie schon bei der ANIT-Cholestase beschrieben wurden (8). Es handelt sich hier um sogenannte zonale Nekrosen mit fleckförmiger Ansammlung von gelapptkernigen Leukocyten, Rundzellen und Erythrocyten um untergehenden Leberzellen.

(Abb. 3)

Bei 5 Tage lang bestehender Choledochusligatur sind die beschriebenen Veränderungen noch stärker ausgeprägt, die Epithelschäden sind deutlicher. Das Sternzellensystem ist gering aktiviert. (Abb. 4)

c) Kontrollen mit Phenobarbital-Behandlung:

In den Präparaten der beiden Versuchsserien (Pheno-barbital-Nach und Vorbehandlung) findet sich im wesentlichen ein normaler Leberzellaufbau, es fällt lediglich auf, daß die feine azurblaue Körnelung etwas grobscholliger und das Protoplasma insgesamt acidophiler erscheint. Es finden sich spärliche rundzellige Infiltrate der Periportalfelder und eine sehr geringe Schädigung des Gallengangsepithels. In keinem Fall jedoch sind die Veränderungen nur annähernd so ausgeprägt wie bei Choledochusligatur.

d) Choledochusligatur und Phenobarbital-Vorbehandlung:

Der Befund ist etwas ausgeprägter als bei Choledochusligatur selbst. Die Präparate bieten das Bild einer Cholangitis: gelapptkernige Leucocyten sammeln sich konzentrisch um periportale Gallengänge. Die Veränderungen beziehen sich mehr auf die Gallengänge als auf das Parenchym. (Abb. 5)

e) Choledochusligatur und Phenobarbital-Nachbehandlung:

Es findet sich gegenüber den Präparaten, die von Tieren mit Choledochusligatur ohne Phenobarbital-Nachbehandlung gewonnen werden, keine Befundänderung, insbesondere ist keine Befundverschlechterung nachweisbar. (Abb. 6)

f) Kontrollen und Cycloheximid-Behandlung:

Es finden sich keine pathologischen Befunde. Lediglich erkennt man eine geringe Ballonisierung von Zellen im Bereich der Zentralvene.

g) Choledochusligatur und Cycloheximid-Nachbehandlung:

Im wesentlichen unterscheiden sich die Veränderungen nicht von den beschriebenen Schäden bei 2 Tage lang bestehender Cholestase nach Choledochusligatur.

Das zusätzlich verabfolgte Cycloheximid scheint lichtmikroskopisch keine Verbesserung oder Verschlechterung der histologischen Befunde hervorzurufen.

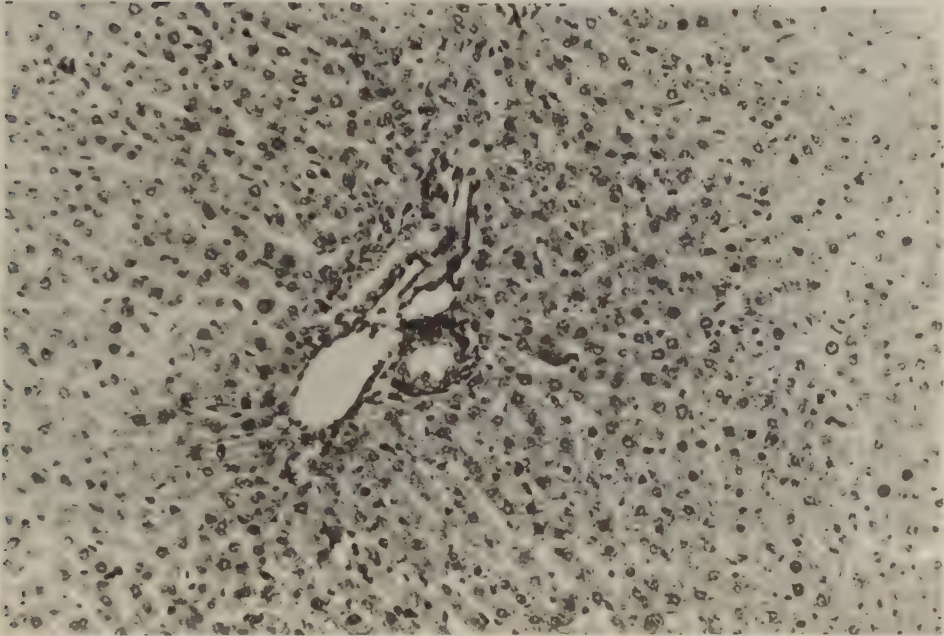


Abb. 1 : Scheinoperierte Kontrollen: Regelrechter Leberzellaufbau, unauffälliges Periportalfeld.
(Vergr. 100x, H.E.-Färbung)

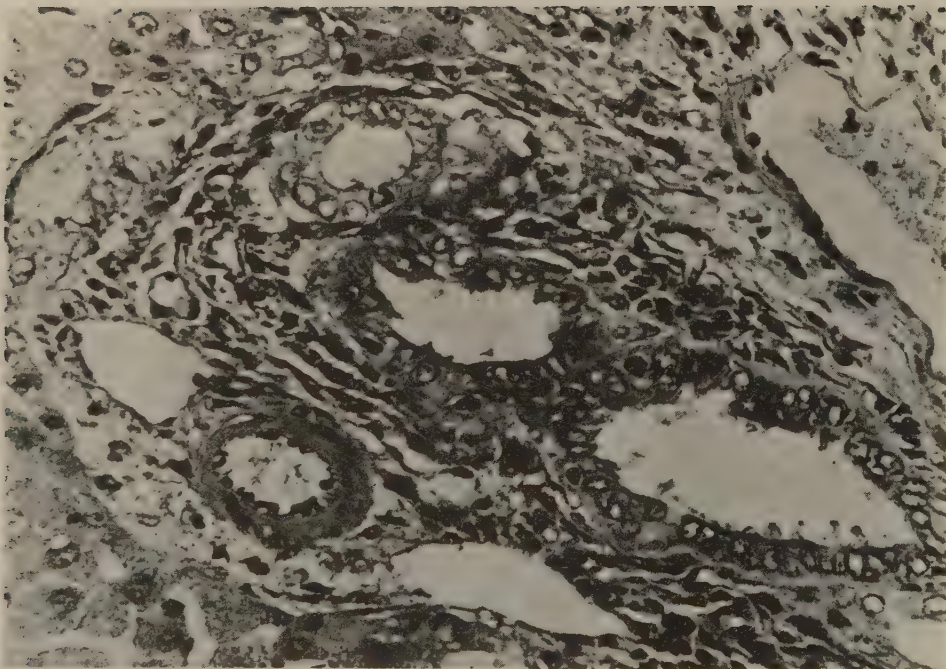


Abb. 2 :Choledochusligatur: Gallengangserweiterungen, geschädigte Epithelien und zelluläre Infiltration.

(Vergr. 250x, H.E.Färbung)

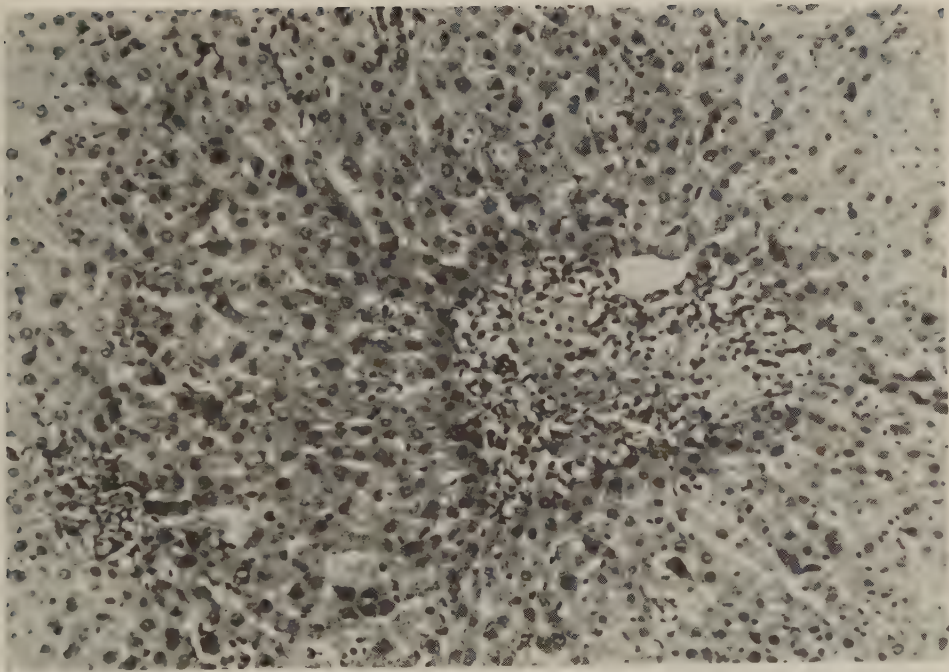


Abb. 3 : Choledochusligatur 2 Tage: sogenannte
zonale Nekrose im Gebiet der Zentralvene.
(Vergr. 100x, H.E.Färbung)

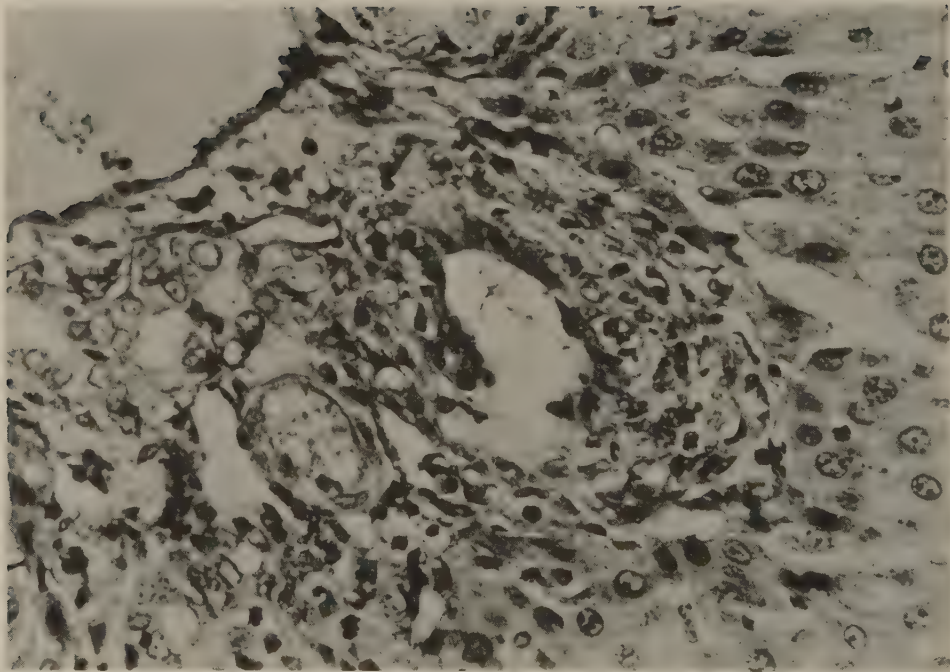


Abb. 4 : Choledochusligatur 5 Tage: starke Erweiterungen der Gallengangslumina und beträchtliche Epitheldefekte.

(Vergr. 250x, H.E.Färbung)

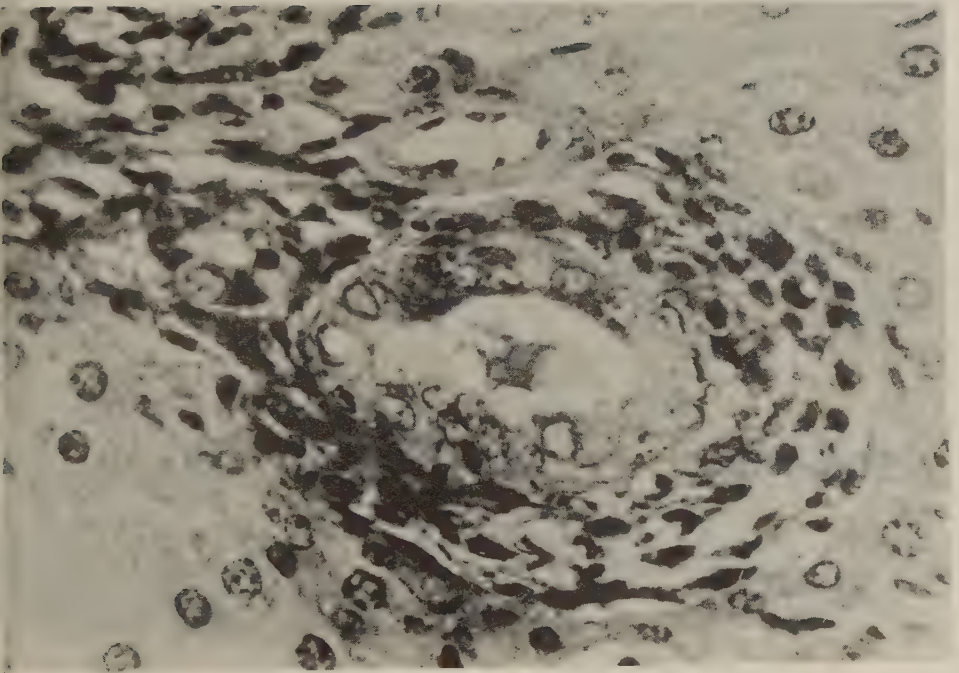


Abb. 5 : Choledochusligatur und 5 Tage Phenobarbital-Vorbehandlung: periportale Infiltration und Ansammlung von gelapptkernigen Leukocyten und Rundzellen um die Gallengänge bieten das Bild einer Cholangitis.
(Vergr. 400x, H.E.Färbung)

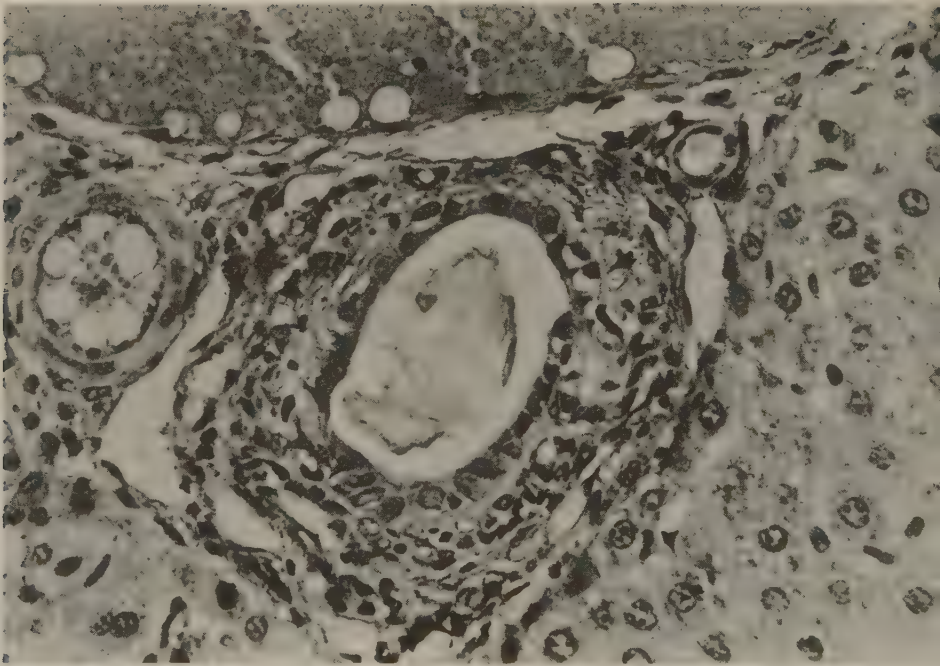


Abb. 6 : Choledochusligatur und 5 Tage Phenobarbital-Nachbehandlung: eindeutige Gallengangsschädigung mit konzentrisch angeordneter rundzelliger und leukocytärer Infiltration. Die Schäden insgesamt sind nicht ausgeprägter als bei Ligatur ohne zusätzliche Phenobarbital-Behandlung.
(Vergr. 250x, H.E.Färbung)

VI. DISKUSSION :

Der Diskussion der Ergebnisse soll eine kurze Zusammenfassung vorangestellt werden:

TEIL A:

In den Untersuchungen der vorliegenden Arbeit hat sich zeigen lassen, daß in vivo bei Vorliegen einer ANIT-Cholestase ein erhöhter Einbau von radioaktiv markiertem 14-C-Glycin in das Leberprotein nachzuweisen ist. Eine zusätzliche Phenobarbital-Vorbehandlung führt unter gleichen Versuchsbedingungen zu einer weiteren Steigerung des Einbaues von 14-C-Glycin in das Lebergewebe in vivo, wohingegen andererseits eine zusätzliche Cycloheximid-Behandlung die Steigerung der Proteinsynthese in der Leber verhindert.

TEIL B:

In dem zweiten Teil der vorliegenden Arbeit kann zunächst gezeigt werden, daß es 48 Stunden nach Anlegen einer Choledochusligatur zu einem deutlichen Anstieg der Proteinsynthese in der Leber kommt. 5 Tage nach Anlegen der Choledochusligatur ist dieser Einfluss jedoch nur noch angedeutet nachweisbar. Eine zusätzliche Phenobarbital-Vorbehandlung oder eine Cycloheximid-Behandlung können jedoch

die durch die Choledochusligatur hervorgerufene Cholestase nicht wesentlich beeinflussen.

A : Die Untersuchungen im Teil A der vorliegenden Arbeit haben gezeigt, daß in vivo bei ANIT-Cholestase intraperitoneal appliziertes Glycin (14-C-Gly) vermehrt in das Leberprotein eingebaut wird. Dieser Befund bestätigt frühere Untersuchungen in vitro, in denen sich zeigen ließ, daß unter den Bedingungen der Cholestase ein gesteigerter Einbau von radioaktiv markierten Aminosäuren in Leberschnitten nachweisbar war (2,6,7,8,18,22).

Dieser Befund wird außerdem gestützt durch die im Teil B wiedergegebenen Ergebnisse nach experimentellem Verschlußikterus durch Choledochusligatur. Er ist weiterhin bestätigt worden durch etwa gleichzeitig durchgeführte Untersuchungen von POPPER (persönliche Mitteilung). KATTERMANN & CREUTZFELD (3) haben unter vergleichbaren Bedingungen eine deutlich gesteigerte Cholesterin- und Phospholipidsynthese in der Leber nachgewiesen.

Durch zusätzliche Phenobarbital-Behandlung kann ähnlich wie bei Untersuchungen in vitro (2) diese erhöhte Proteinsynthese in der Leber bei der ANIT-Cholestase noch gesteigert werden, wobei auch unter

den Bedingungen der vorliegenden Arbeit - wenn auch nicht im gleichen Ausmaß - anhand der klinisch-chemischen Veränderungen eine verstärkte Cholestase nachgewiesen werden kann.

Durch eine gleichzeitige Cycloheximid-Behandlung lässt sich der Anstieg der Proteinsynthese in der Leber verhindern und die Cholestase abschwächen. Damit werden auch an diesem kleinen Tierkollektiv frühere Untersuchungen von GRÜN (2) bestätigt.

Besonders wichtig ist, daß sich unter den Bedingungen der zusätzlichen Phenobarbital-Behandlung kein Anhalt für eine gleichzeitig ablaufende Haemolyse gewinnen lässt. Der durch Phenobarbital-Vorbehandlung verstärkte cholestatische Ikterus kann also nicht durch eine zusätzliche Haemolyse hervorgerufen worden sein. Bei einer Cycloheximid-Behandlung allerdings fällt der Hb-Gehalt im Blut deutlich ab, hier ist möglicherweise neben einer verminderten Hb-Synthese eine Haemolyse zu berücksichtigen.

Nachdem bekannt ist, daß eine Phenobarbital-Behandlung - wie in der vorliegenden Arbeit - zu einer deutlichen Erhöhung des Cytochrom p_{450} in der Leberzelle und zu einem verstärkten Umsatz dieses Cyto-

chroms in der Leber führt - welches nach SCHMID & al. (17) in der Leberzelle quantitativ in Bilirubin umgewandelt wird - ist als Ursache für die verstärkte Bilirubin-Erhöhung im Serum bei Phenobarbital-Behandlung eine vermehrte Bilirubin-Produktion aus dem Cytochrom p_{450} in der Leber zu diskutieren.

SCHMID und Mitarbeiter (17) zeigten, daß ein Teil des "early labeled" Bilirubins aus mikrosomalen Cytochromen der Leber stammt.

Diese Diskussionsmöglichkeit wird gestützt durch Untersuchungen von ROBINSON (15), der ganz allgemein bei toxischen Leberschäden eine Erhöhung der Bilirubin-Synthese in der Leberzelle gemessen hat. Ferner haben ROBERTS & PLAA (14) nachgewiesen, daß vergleichbar zu den bereits zitierten Untersuchungen von GRÜN (2) sich die ANIT-bedingte Cholestase aktivieren und hemmen lässt und daß bei beginnender Cholestase vermehrt Bilirubin in die Galle ausgeschieden wird, wobei sich zusätzlich auch ein gesteigerter Einbau von 14-C-Alanin nachweisen lässt, was erklären könnte, daß bei bestehender Cholestase vermehrt Bilirubin in der Leber ausgeschieden wird.

B : Durch die in dem zweiten Teil dargestellten Untersuchungsergebnisse wird gezeigt, daß 48 Stunden nach Anlegen der Choledochusligatur in der Verschlußikterus-Leber vermehrt Protein synthetisiert wird. Dieses Ergebnis stützt früher erhobene Befunde an Leberpunktaten bei menschlicher extra- und intra-hepatischer Cholestase und Befunde von WINTER, SCHNEIDER und GRÜN (2,18,22), die zeigten, daß bei tierexperimenteller Cholestase in vitro ein erhöhter Einbau von radioaktiv markierten Aminosäuren in das Leberprotein nachzuweisen ist, wie auch in vivo im Teil A dieser Arbeit bereits beschrieben worden ist.

Wie bereits erwähnt, haben andere Autoren (3) bei menschlicher und tierexperimenteller Cholestase auch eine deutlich erhöhte Cholesterinsynthese gemessen. Daraus ist zu schließen, daß die bekannte Cholesterinsteigerung im Serum bei cholestatischen Erkrankungen nicht nur auf eine verminderte Ausscheidung in die Galle, sondern auch auf eine gesteigerte Neusynthese in der Leber zurückgeführt werden muß.

Es scheinen also in der Leberzelle bei Vorliegen des Cholestase-Syndroms diesbezüglich gesteigerte Stoffwechselvorgänge abzulaufen, was darauf hinweist, daß die Leberzelle an der Ausbildung der Cholestase

in erheblichem Ausmaß mitbeteiligt ist.

Im Gegensatz zu der durch orale ANIT-Applikation bedingten Cholestase lässt sich das Ausmaß der Veränderungen der Leberfunktionsproben bei extrahepatischer Cholestase nach mechanischem Verschluss durch Choledochusligatur nicht durch eine zusätzliche Phenobarbital-Vor- oder Nachbehandlung und auch nicht durch zusätzliche Cycloheximid-Gabe verstärken oder abschwächen. Dies bestätigt sich auch in den gleichzeitig durchgeführten histologischen Untersuchungen, in denen sich zeigen ließ, daß nach zusätzlicher Phenobarbital-Behandlung keine prinzipiell stärkeren Schäden nachgewiesen werden können. Desgleichen lässt sich durch Cycloheximid-Applikation keine Besserung des histologischen Befundes erzielen.

Ob sich aus diesen Untersuchungen ein Hinweis darauf ergibt, daß die biochemischen Veränderungen in der Leberzelle bei mechanisch bedingter Cholestase durch Choledochusligatur anders sind als bei Cholestase nach oraler ANIT-Gabe, kann aufgrund der vorgelegten Untersuchungen nicht entschieden werden. Wie bereits kurz ausgeführt, wäre es durchaus denkbar, daß allein durch den operativen Eingriff Veränderungen ausgelöst werden, die den sonst beobach-

teten Phänomenen gegenläufig sind (z.B.: post-operativer Katabolismus).

An dieser Stelle soll zum Beispiel an die klinisch gelegentlich beobachtbaren Erfolge einer Laparatomie auf den Verlauf einer intrahepatischen Cholestase hingewiesen werden. Nach operativer Revision der Gallenwege ist bei dieser Erkrankung häufig ein rascher Bilirubin-Abfall im Serum zu bemerken, für den das operative Vorgehen selbst keine Erklärung abgeben kann.

VII. Z U S A M M E N F A S S U N G :

=====

In der vorliegenden Arbeit werden Untersuchungen zur Proteinsynthese in der Leber bei experimenteller Cholestase der Ratte mitgeteilt.

Als Maß für die Proteinsynthese diente der Einbau von 14-C-Glycin und von 14-C-Asparaginsäure.

Im Serum der Versuchstiere wurden Gesamt-Bilirubin, Cholesterin, SGPT, SLAP und die Alkalische Phosphatase bestimmt.

Ergebnisse:

- A. Es wurde die Aktivität der ANIT-Cholestase unter verschiedenen Bedingungen anhand der klinisch-chemischen Veränderungen im Serum bestimmt. zusätzlich wurde der Einbau von 14-C-Glycin in Organproteine in vivo gemessen.

Folgende Ergebnisse wurden gewonnen:

- 1.) Deutlichere Ausprägung der ANIT-Cholestase nach 5 tägiger Phenobarbital-Vorbehandlung. Der Einbau des markierten Glycins in das Leberprotein in vivo ist deutlich gesteigert.
- 2.) Leichte Abschwächung der ANIT-Cholestase durch zusätzliche Gabe von Cycloheximid.

Zusammenfassend kann man sagen, daß nach oraler Gabe von ANIT die anabole Reaktion der Leber - nur in diesem Organ findet sich diese Reaktion - auch in vivo nachgewiesen werden kann. Die Reaktion wird durch Phenobarbital verstärkt und durch Cycloheximid abgeschwächt.

B. Bei den Untersuchungen mit experimentellem Verschluß-
ikterus nach Choledochusligatur fanden sich folgende
Ergebnisse:

1.) 48 Stunden nach Anlegen der Choledochusligatur
weisen die Leberfunktionsproben eindeutig auf einen
Ikterus vom Verschlußtyp hin; die Proteinsynthese
und der Proteingehalt der Leber sind signifikant
gesteigert.

5 Tage nach Anlegen der Ligatur sind die Veränder-
ungen nicht mehr so deutlich ausgeprägt.

Histologisch ergeben sich charakteristische Veränder-
ungen im Sinne der sogenannten "zonalen Nekrosen"
im Gebiet der Zentralvene und massive Erweiterungen
der Gallengangslumina, ferner Epithelveränderungen
und -abschilferungen.

2.) Durch zusätzliche Cycloheximid-Gabe gelingt es
nicht, die Aktivität einer durch mechanischen Verschluß
erzeugten Cholestase zu beeinflussen.

Desgleichen findet sich auch in den histologischen Präparaten (im Lichtmikroskop) keine Änderung des histologischen Befundes nach Cycloheximid-Gabe.

3.) Es gelingt nicht, durch zusätzliche Applikation von Phenobarbital die Aktivität der durch Choledochusligatur bedingten Cholestase zu variieren. Es finden sich unter den bereits genannten Bedingungen keine Veränderungen der Proteinsynthese im Vergleich zu den scheinoperierten Kontrollen. Die bei ANIT-Cholestase gefundene Aktivitätssteigerung nach zusätzlicher Phenobarbital-Medikation kann an dem Modell der extrahepatischen Cholestase nach Choledochusligatur nicht reproduziert werden. Histologisch zeigt sich unter Phenobarbital ein etwas deutlicher ausgeprägter Befund: es findet sich das Bild einer Cholangitis.

Die Ergebnisse werden diskutiert.

VIII. L I T E R A T U R A N G A B E :

=====

- 1.) GREIM, H., SCHENKMANN, J.B., KLOTZBÜCHER, M.,

REMMER, H.:

The influence of Phenobarbital on the turnover
of hepatic microsomal cytochrome b_5 and cytochrome
 P_{450} hemes in the rat.

Biochem. Biophys. Acta. 201, 20 (1970)

- 2.) GRÜN, M.:

Über den Einfluß der Proteinsynthese in der
Leber auf die Entwicklung des cholestatischen
Ikterus unter ANIT.

Inaugural Dissertation Giessen 1969

- 3.) KATTERMANN, R., CREUTZFELD, W.:

Lipid synthesis in rat liver in experimental
cholestasis.

V th International Meeting of the International
Association for the Study of the Liver.
Karlsbad 1968

- 4.) KÜHN, H.A., RICHTER, E.:

Pathophysiologie und Klinik der intrahepatischen
Cholestase.

Med. Klin. 65, 1, (1970)

- 5.) RICHTER, E., CLAUDITZ, S., LEINWEBER, B.,

KÜHN, H.A.:

Erhöhte Proteinsynthese in Leberpunktaten von
Patienten mit akuter Hepatitis.

Acta hepato-splenologica 15, 376, (1968)

- 6.) RICHTER, E., GRÜN, M., KÜHN, H.A.:
Proteinsynthese und Ikterus bei der ANIT-Cholestase der Ratte.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 75, 367, (1969)
- 7.) RICHTER, E., GRÜN, M., LEINWEBER, B., KÜHN, H.A.:
Influence of liver protein synthesis on development of experimental cholestatic jaundice in rats.
IV th Meeting of the European Association for the Study of the liver, (EASL) Wien 1969
Abstr. Medizin u. Ernährung (1969)
- 8.) LEINWEBER, B., RICHTER, E., KÜHN, H.A.:
Histologie und Proteinsynthese der Rattenleber bei ANIT-Cholestase.
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 75, 365, (1969)
- 9.) POPPER, H.:
Intrahepatische Cholestase.
Aktuelle Hepatologie (3. Lebersymposium in Vulpera/Schweiz, Sept. 1968) Hrsg.: H.A. Kühn, H. Liehr.
Gg. Thieme Verlag, Stuttgart, 1969
s. 1-12
- 10.) POPPER, H.:
Organelle Pathology of the Liver.
Transactions and Studies of the College of Physicians of Philadelphia. Vol 34, No. 4 April (1967)
- 11.) POPPER, H., MEDLINE, A.:
Die "Organellen Pathologie". Ihre Bedeutung bei der Beurteilung von Leberfunktionsproben.
Münchener Medizinische Wochenschrift, Nr. 31, 1569, (1969)

12.) REMMER, R.:

Die Induktion arzneimittelabbauender Enzyme
im endoplasmatischen Reticulum der Leberzelle
durch Pharmaka.

Deutsche Medizinische Wochenschrift, Nr. 44,
2001, (1967)

13.) ROBERTS, R.J., PLAA, G.L.:

Potentiation and inhibition of alpha-naphthyl-
isothiocyanat induced hyperbilirubinemia and
cholestasis.

The Journal of Pharmacology and Experimental
Therapeutics, June 25, 499, (1965)

14.) ROBERTS, R.J., PLAA, G.L.:

Effect of alpha-naphthyl-isothiocyanat (ANIT)
on bile bilirubin excretion and the incorporation
of delta-aminolevulin acid (Ala) into Bilirubin.

Abstr. Gastroenterolog. 54, 165, (1968)

15.) ROBINSON, S.H.:

Increased Bilirubin formation from nonhemo-
globin sources in rats with disorders of the
liver.

The Journal of Laboratory and Clinical Medicine
Vol. 73, No. 4, 668, (1969)

16.) SCHAFFNER, F., POPPER, H.:

Cholestasis is the result of hypoactive hyper-
trophic smooth endoplasmic reticulum in the
Hepatocyte.

The Lancet, August 16, 355, (1969)

17.) SCHMID, R., MARVER, H.S., HAMMAKER, L.:

Enhanced formation of rapidly labeled bilirubin
by phenobarbital. Hepatic microsomal cytochromes
as a possible source.

Biochem. Biophys. Res. Comm. 24, 319, (1966)

18.) SCHNEIDER, M.:

Untersuchungen zur Proteinsynthese der Leber bei experimenteller intrahepatischer Cholestase der Ratte.

Inaugural Dissertation Giessen 1969.

19.) STEFFENELLI, N., HOLZER, J.H.:

Experimentelle Cholestase der Ratte durch einmalige Gabe von alpha-naphthyl-isothiocyanat. Histologische und enzymhistochemische Veränderungen der Leber.

Z. ges. exp. Med. 139, 762, (1965)

20.) THOMPSON, R.P.H., WILLIAMS, R.:

Treatment of chronic intrahepatic cholestasis with phenobarbitone.

The Lancet, Sept. 23, 646, (1967)

21.) TORNHEIM, K., O'DELL, R.G., PROSKY, L.:

Effects of Cycloheximide on DNA and Protein Synthesis in rat liver (33935)

Proceedings of the society for experimental biology and medicine. No. 2 June, 131, (1969)

22.) WINTER, E.:

Untersuchungen zur Proteinsynthese der Leber bei der ANIT-Cholestase der Ratte.

Inaugural Dissertation Giessen 1969.

IX. L E B E N S L A U F :

=====

Am 16. April 1946 wurde ich als zweites Kind des
Arztes Dr. Adolf Kraft und seiner Ehefrau Johanna,
geb. Bauer, in Darmstadt geboren.

Von 1952 bis 1956 absolvierte ich die Grundschule
in der Kreisstadt Dieburg. Ab Ostern 1956 besuchte
ich den humanistischen Zweig des Goethe-Gymnasiums,
ebenfalls in Dieburg. Dort legte ich am 12.2.1965
die Reifeprüfung ab.

Mit dem Medizinstudium begann ich im SS 1965 an
der Justus Liebig-Universität Giessen.

Abgelegte Prüfungen:

Naturwissenschaftliche Vorprüfung:	Oktober 1966
. Ärztliche Vorprüfung	: April 1968
Ärztliche Prüfung	: Juli 1971

Christa Kraft

Herrn Prof. Dr. H.A. KÜHN danke ich für die
Überlassung des Themas dieser Dissertation.

Herrn Dr.med.habil. E. RICHTER danke ich für
den mir in seinem Labor zur Verfügung gestellten
Arbeitsplatz und für die Hilfe bei der Interpre-
tation der Ergebnisse.

Die Durchführung der methodischen Versuche erfolgte
gemeinsam mit Herrn I. MAHN. Für seine Mithilfe bin
ich ihm besonders dankbar.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449